

بررسی یک واریانت در ژن Vitamin D Receptor در جمعیت مرد و زن ورزشکار اهواز با حجم توده‌ی بدنی نرمال در مقایسه با گروه شاهد

مریم حکیمیان^۱، دلبر محمدی^۱، آتوسا مرادزادگان^۲

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: ۸۰-۲۰ درصد تغییرات، صفات عملکرد ورزشی، مربوط به عوامل ژنتیکی است. تا به امروز بیش از ۲۰۰ ژن مرتبط با عملکرد ورزشی شناسایی شده است. ژن VDR (Vitamin D Receptor) می‌تواند نقش مهمی در تکثیر سلولی، تمایز و روند انقباض عضلات داشته باشد. هدف از این مطالعه، بررسی یک واریانت از ژن VDR در ورزشکاران به عنوان یک نشانگر ژنتیکی در تعیین استعدادیابی ورزشی بود.

روش‌ها: در این پژوهش، ۱۰۰ ورزشکار حرفه‌ای در ۲ گروه زن و مرد و ۱۰۰ فرد سالم غیر ورزشکار با BMI (Body mass index) نرمال به عنوان گروه شاهد، وارد مطالعه شدند. پس از کسب رضایت آگاهانه، خون‌گیری جهت تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم rs10735810 یا جایگاه FokI با روش ARMS-PCR انجام شد. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار Graphpad Prism 6 و آزمون Chi-square انجام شد.

یافته‌ها: تعداد افراد با ژنوتایپ F/F در گروه ورزشکاران ۲۳ درصد و در گروه شاهد ۶۵ درصد و همچنین افراد با ژنوتایپ F/f در گروه ورزشکاران، ۶۴ درصد و در گروه شاهد، ۲۰ درصد بود. تعداد افراد با ژنوتایپ f/f در دو گروه ورزشکاران، ۱۳ درصد و گروه شاهد، ۱۵ درصد بود. همچنین اختلاف معنی‌داری از مقایسه‌ی فراوانی ژنوتایپی در دو گروه زنان و مردان ورزشکار در مقایسه با یکدیگر مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تأثیر آلل f فقط در حالت هتروزیگوت است. از طرف دیگر، عدم وجود اختلاف معنی‌داری از نظر فراوانی ژنوتایپی در دو گروه زنان و مردان ورزشکار، نشان از تأثیر مستقل از جنسیت این پلی مورفیسم در جمعیت دارد.

واژگان کلیدی: پلی مورفیسم؛ FokI؛ ژن؛ VDR؛ ورزشکاران

ارجاع: حکیمیان مریم، محمدی دلبر، مرادزادگان آتوسا. بررسی یک واریانت در ژن Vitamin D Receptor در جمعیت مرد و زن ورزشکار اهواز با حجم توده‌ی بدنی نرمال در مقایسه با گروه شاهد. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۹۲): ۸۵۶-۸۵۱

مقدمه

ژنتیک ورزشی، شاخه‌ی نسبتاً جدیدی از علم است که به طور رسمی در سال ۱۹۸۰ ظاهر شد. مطالعات نشان می‌دهد توانایی ورزشکار توسط هر دو عوامل ژنتیکی و محیطی تعیین می‌شود و وراثت می‌تواند به میزان تقریباً ۶۶ درصد موفقیت ورزشکار را پیش‌بینی کند (۱). کارآیی دوییدن، (Maximal oxygen consumption) VO₂max و آستانه‌ی لاکتات (Lactate threshold)، از اجزای کلیدی تعیین‌کننده‌ی عملکرد استقامتی به شمار می‌روند (۲). از جمله ژن‌های دخیل در پیش‌بینی فنوتیپ ورزشی و پاسخ فرد به تمرین، ژن

گیرنده‌ی ویتامین D (Vitamin D receptor) VDR است (۳). گیرنده‌ی ویتامین D یک واسطه‌ی حیاتی برای واکنش‌های سلولی ویتامین D است (۴). ژن این گیرنده که بر روی کروموزوم 12q13 قرار دارد، دارای یک ناحیه‌ی پرموتور گسترده، ۱۱ اگزون و ۶۳۴۹۳ نوکلئوتید می‌باشد. این گیرنده دارای چندین مارکر ژنتیکی می‌باشد که از آن جمله می‌توان به FokI، BsmI، ApaI و غیره اشاره کرد. ژن VDR، ژن مهمی در عملکرد عضلات است (۵). نتایج نشان داده است که تعیین ژنوتیپ (Angiotensin-converting enzyme) ACE و VDR ممکن است به انتخاب آن دسته از ورزشکاران جوان

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

۲- استادیار، گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: آتوسا مرادزادگان؛ استادیار، گروه علوم تجربی، واحد دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، دزفول، ایران

طراحی پرایمرها صورت گرفت که توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است. PCR با برنامه‌ی دمایی زیر مورد استفاده قرار گرفت:

۳ دقیقه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس ۳۵ چرخه به صورت ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و در نهایت به صورت ۴ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به منظور طویل‌سازی نهایی انجام شد. در مرحله‌ی نهایی، سه نمونه با الگوی ژنوتیپی همو وحشی/هترو/همو جهش یافته از محصولات PCR برای تعیین توالی Sanger ارسال شدند. پس از پایان یافتن مراحل آزمایشگاهی و به دست آمدن کلیه ژنوتیپ‌های افراد، نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار Graphpad prism 6 و آزمون‌های Chi-square و T مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. سطح معنای داری آزمون Chi-square کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۵۰ زن و ۵۰ مرد ورزشکار حرفه‌ای و ۱۰۰ فرد غیر ورزشکار با BMI نرمال ارزیابی صورت گرفت. این نمونه‌ها از افرادی در محدوده‌ی سنی بین ۱۸ تا ۳۰ سال و تعداد برابر از نظر جنسیت در هر دو گروه تهیه شد. در این پژوهش پس از استخراج DNA از روش ARMS-PCR استفاده گردید. طول باندهای به دست آمده برای پرایمرهای خارجی ۲۵۶ جفت بازی، همچنین پرایمرهای فوروارد داخلی-ریورس خارجی (Allele T) طول ۱۲۸ bp و پرایمرهای فوروارد خارجی-ریورس داخلی طول قطعه (Allele C) ۱۶۶ bp بود. به منظور تأیید نتایج حاصل از PCR و نیز ARMS-PCR، نمونه‌هایی از ژنوتیپ‌های مختلف، تعیین توالی شدند (شکل ۱-۳).

نتایج تجزیه و تحلیل آماری Graphpad Prism 6 مربوط به تعیین ژنوتیپ و فراوانی آللی پلی‌مورفیسم rs10735810 مورد مطالعه، در ۲۰۰ نمونه، در جدول ۲ آورده شده است. مقایسه‌ی درصد فراوانی ژنوتیپی در دو گروه افراد ورزشکار و غیر ورزشکار ساکن اهواز با استفاده از آزمون Chi-square نشان داد که این پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی T>C می‌تواند با توجه به (OR: ۲/۱۴، P < ۰/۰۰۰۱) از نظر آماری در بروز فنوتایپ ورزشکاری در جمعیت مورد بررسی مؤثر باشد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای طراحی شده با نرم‌افزار Oligo7. همان‌طور که مشاهده می‌شود، برای جلوگیری از خطای false Positive دو مین نوکلئوتید پیش از نوکلئوتید سر 3' پرایمر نیز دچار خطای missense شده که در صورت عدم اتصال سر 3' از عدم دستیابی به محصول اطمینان حاصل شود.

Tm	Sequence	Primer
256bp	5'-CTGGGGAGATGCCACCC-3'	F outer
	5'-GAAGTGAAAGCCAGTGGCTG-3'	R outer
129bp	5'-CTGCTTGTCTTCTTACAGG[G/T]AT-3'	(Allele T) F inner
166bp	5'-GGCCGCCATTGCTT[C/A]CG-3'	(Allele C) R inner

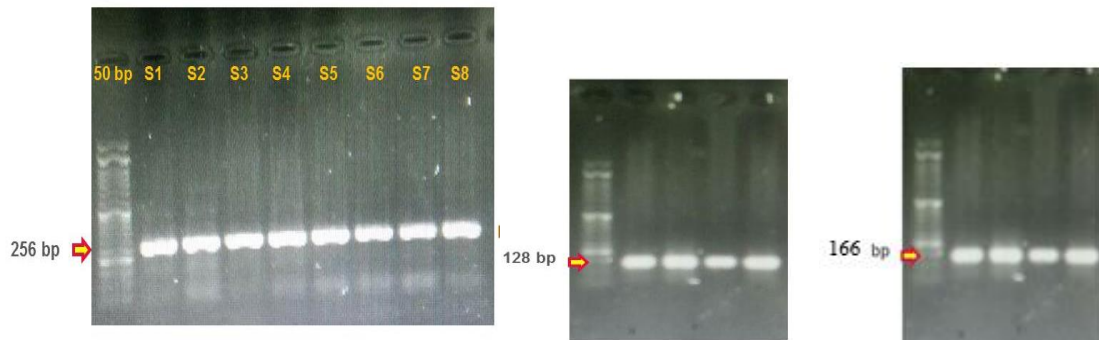
که دارای پتانسیل ژنتیکی مطلوب برای موفقیت در ورزشی مثل فوتبال هستند، کمک کند (۴). شناخت اثرات ژنومی و غیرژنومی ویتامین D در ماهیچه‌های اسکلتی با تأثیر بر روی متابولیسم کلسیم و رونویسی پروتئین، اهمیت ویتامین D را بر عملکرد عضلات بیشتر نشان می‌دهد (۶). همچنین شواهد حاکی از آن است که ژنوتیپ ACTN3 (Alpha-actinin-3) و VDR به صورت جداگانه یا ترکیبی ممکن است عملکرد عضلات در وزنه‌برداران را تحت تأثیر قرار دهد و به طور قابل توجهی در عملکرد بهتر وزنه‌برداران نقش داشته باشد (۷).

پلی‌مورفیسم یا چند شکلی، تغییر نوکلئوتید در توالی ژن‌هاست، که به بیماری خاصی منجر نمی‌شود و فراوانی بیشتر از یک درصد در جوامع دارد و تا به امروز بیش از ۲۰۰ (Single nucleotide polymorphism) SNPS مرتبط با برخی از ویژگی‌های مربوط به عملکرد تناسب اندام گزارش شده است (۸). برخی پژوهشگران صاحب‌نظر در حوزه‌ی استعدادیابی ورزشی تلاش کرده‌اند الگوهای مبتنی بر عوامل ذاتی و اکتسابی ارائه دهند. شواهد جمع‌آوری شده وجود نقش عملکردی ویتامین D در عضله‌ی اسکلتی را با تأثیرات بالقوه‌ی قابل توجهی در عملکرد و پروفایل‌های آسیب‌دیدگی ورزشکاران جوان و سالم حمایت می‌کند. هدف از این مطالعه، تعیین پلی‌مورفیسم ژن (F/f) VDR و تعیین اینکه آیا الگوی ژنتیکی ترجیحی وجود دارد که بتواند به عنوان یک پیش‌بینی کننده‌ی بالقوه برای ورزشکاران موفق استفاده شود. در واقع از نشانگرهای ژنتیکی می‌توان به عنوان معیارهای شناسایی استعدادها و ورزشی و یک پیش‌بینی کننده‌ی بالقوه برای شناسایی ورزشکاران موفق استفاده کرد.

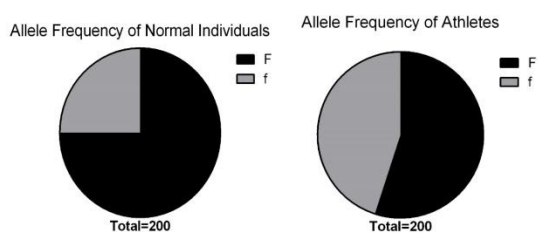
روش‌ها

PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Applied Biosystems (USA) انجام شد.

برای انجام واکنش از مسترمیکس (Taq DNA Polymerase 2x Master Mix RED Ampliqon) استفاده شد. در این پژوهش برای طراحی پرایمرها، نخست توالی ژن گونه‌ی انسان (Homo sapience) از پایگاه داده‌ی Ensemble به صورت فایل Fasta تهیه شد و سپس با کمک پایگاه Primer Blast و نرم‌افزار Oligo7

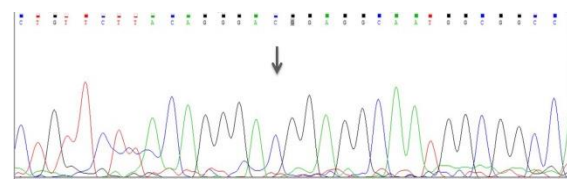


شکل ۱. برای مشاهده نتایج PCR، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مشاهده شدند. توالی پرایمرهای خارجی طراحی شده تولید باندهای ۲۵۶ جفت بازی، همچنین پرایمرهای فوروارد داخلی- ریورس خارجی (Allele T) قطعه‌ی ۱۲۸ bp و پرایمرهای فوروارد خارجی- ریورس داخلی تشکیل قطعه‌ی ۱۶۶ bp (Allele C) را رهبری می‌کنند. نتایج الکتروفورز محصولات PCR در شکل زیر قابل مشاهده است.



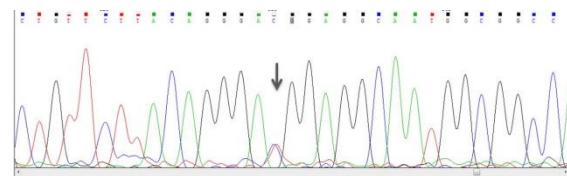
شکل ۴. فرکانس آللی های F و f در دو جمعیت ورزشکاران؛ چپ؛ و افراد غیر ورزشکار؛ راست

تفاوت چشمگیر و معنی دار تعداد افراد با ژنوتایپ F/F در گروه ورزشکاران ۲۳ درصد در مقایسه با گروه شاهد ۶۵ درصد و همچنین تفاوت معنی دار افراد با ژنوتایپ F/f در گروه ورزشکاران ۶۴ درصد در مقایسه با گروه شاهد ۲۰ درصد و عدم تفاوت معنی دار ژنوتایپ f/f در دو گروه ورزشکاران ۱۳ درصد و گروه شاهد ۱۵ درصد حاکی از تأثیر آلل f بر فنوتایپ ورزشکاری در حالت هتروزیگوت است و در حالت هموزیگوت تأثیری بر فنوتایپ جمعیت مورد مطالعه نداشته است. همچنین، نتایج اختلاف معنی داری از مقایسه‌ی فراوانی ژنوتایپی در دو گروه زنان و مردان ورزشکار در مقایسه با یکدیگر مشاهده نشد (OR: ۰/۳۰۳، P < ۰/۸۴) که این امر نشان از تأثیر مستقل از جنسیت این پلی مورفیسم بر روی جمعیت دارد.



شکل ۲. ژنوتیپ CC پلی مورفیسم rs10735810

اختلاف معنی دار فراوانی آللی های F و f در دو جمعیت ورزشکاران (F: ۵۵، f: ۴۵) و افراد غیر ورزشکار (F: ۲۵، f: ۷۵) تأیید دیگری بر تأثیر این پلی مورفیسم بر بروز فنوتایپ ورزشکاری در جمعیت مورد بررسی است (شکل ۴).



شکل ۳. ژنوتیپ TC پلی مورفیسم rs10735810

درصد فراوانی ژنوتایپی افراد در سه گروه زنان و مردان ورزشکار و افراد غیر ورزشکار با BMI نرمال به صورت نمودار نمایش داده شده است (شکل ۵).

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپ افراد مورد مطالعه در T>C rs10735810 ژن VDR در جایگاه FokI که با سه ژنوتیپ F/F، F/f و f/f

ژنوتیپ	ورزشکار زن (n = ۵۰) تعداد (درصد)	ورزشکار مرد (n = ۵۰) تعداد (درصد)	افراد با BMI نرمال غیرورزشکار (n = ۱۰۰) تعداد (درصد)
F/F	۱۱ (۲۲)	۱۲ (۲۴)	۶۵ (۶۵)
F/f	۳۳ (۶۶)	۳۱ (۶۲)	۲۰ (۲۰)
f/f	۶ (۱۲)	۷ (۱۴)	۱۵ (۱۵)

با حساسیت بیشتری می‌تواند به پاسخ ورزش در ستنز مغز استخوان دخیل باشد و بر اساس یافته‌ی آن‌ها پاسخ اکتسابی استخوان به ورزش ممکن است تا حدی به واریانس‌های آللیک ژن VDR مرتبط باشد (۱۱، ۱۲). این امر می‌تواند با داده‌های حاصل از پژوهش کنونی همسو باشد.

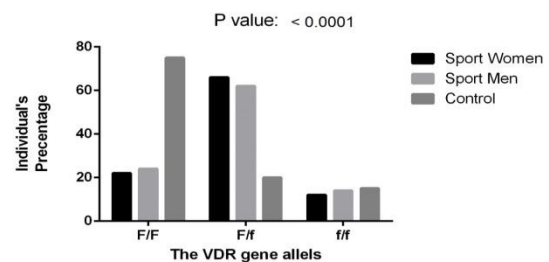
نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی کنونی، پلی‌مورفیسم FOKI در ارتباط با فنوتایپ ورزشکاری به طور کلی در جمعیت ورزشکاران اهواز بررسی شد. بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه، درصد بیشتری از افراد با ژنوتایپ هتروزیگوت دارای فنوتایپ ورزشی بودند؛ همچنین یافته‌های حاصل از بررسی فرکانس آللی نشان داد که در میان ورزشکاران آلل F از فراوانی بیشتری نسبت به افراد گروه شاهد و غیر ورزشکار دارد.

همچنین، اختلاف معنی‌داری از مقایسه‌ی فراوانی ژنوتایپی در دو گروه زنان و مردان ورزشکار در مقایسه با یکدیگر مشاهده نشد (OR: ۰/۳۰۳، $P < ۰/۸۴$) که این امر نشان از تأثیر مستقل از جنسیت این پلی‌مورفیسم بر روی جمعیت دارد. داده‌های حاصل از پژوهش کنونی در کنار مطالعات بیشتر بر روی جامعه‌ی آماری بزرگ‌تر، بررسی اختلافات ژنوتایپی قومی و لحاظ فنوتایپ ورزشی می‌تواند به شناخت صحیح‌تر رابطه‌ی ژنوتایپ-فنوتایپ در ورزشکاران کمک شایانی کند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره‌ی پژوهانه‌ی ۹۷۰۱۶۵۶۲۱ زیست‌شناسی گرایش سلولی و مولکولی مصوب شورای پژوهش طرح‌های دانشگاه آزاد اسلامی دزفول می‌باشد.



شکل ۵. درصد فراوانی ژنوتایپی افراد در سه گروه زنان ورزشکار، مردان ورزشکار و افراد غیرورزشکار

بحث

کشورهای پیشرفته‌ی جهان با تعیین فراوانی‌های برخی ژنوتایپ‌ها به دنبال کشف استعدادهای بالقوه در فعالیت‌های ورزشی گوناگون به وسیله‌ی علم ژنتیک هستند که از جمله ژن‌های دخیل در پیش‌بینی فنوتایپ ورزشی ژن گیرنده‌ی ویتامین D (VDR) است (۶، ۹). هرچند مطالعات بسیاری در رابطه با پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR و فنوتایپ ورزشی صورت پذیرفته است، نتایج آن‌ها ناهمگون است که این امر ممکن است به سبب تفاوت در طراحی مطالعات، تعداد کم نمونه‌ها، تفاوت در قومیت‌ها و یا سایر فاکتورهای محیطی باشد (۱۰). Massidda و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR و آسیب‌های اسکلتی و عضلانی در فوتبالیست‌های مرد پرداختند. بر اساس این مطالعه، پلی‌مورفیسم FokI ارتباط معنی‌داری با آسیب‌های عضلانی و اسکلتی فوتبالیست‌های مرد نداشت (۱۰). این امر در تضاد با داده‌های به دست آمده در پژوهش کنونی است با این وجود از سوی دیگر Tajima و همکاران در سال ۲۰۰۰ تفاوت در پاسخ به متابولیسم استخوان را در مردان جوان ژاپنی در ارتباط با پلی‌مورفیسم مرتبط با FokI در ژن VDR نشان دادند. بر اساس گزارش آن‌ها، ژنوتایپ FF

References

- Sayahi M, Asgharipour A. Investigating the role of genetics on sports talent and physical performance of athletes. Proceedings of the 4th International Conference On Modern Researches In Sports Sciences And Physical Training, 2020 Jan 23. Hamadan, Iran; 2020. [In Persian].
- Rahmati M, Faramarziyan N, Mirnsouri R, Bahrami M. The relationship between GNB3 gene polymorphism and endurance exercise: a systematic review and meta-analysis [in Persian]. Modares J Med Sci: Biopathology 2014; 18: 1-13.
- Bid H, Mishra, DK, Mital, RD. Vitamin-D Receptor (VDR) Gene (Fok-I, Taq-I & Apa-I) Polymorphism in Healthy Individuals from North Indian Population. Asia Pac J Cancer Prev 2005; 6(2): 147-52.
- Micheli M, Gulisano, M, Morucci, G, Punzi, T, Ruggiero, M, Ceroti, and et al. Angiotensin-converting enzyme/vitamin D receptor gene polymorphisms and bioelectrical impedance analysis in predicting athletic performances of Italian young soccer players. J Strength Cond 2011;25, 2084-91.
- Bozsodi A, Boja S, Szilagyi A, Somhegyi A, Varga PP, Lazary A. Muscle strength is associated with vitamin D receptor gene variants. J Orthop Res 2016; 34(11): 2031-7..
- Wang G, Padmanabhan S, Wolfarth B, Fuku N, Lucia A, Ahmetov II, et al. Genomics of elite sporting performance: What little we know and necessary advances. Genet 2013; 84: 123-49.
- Szalata M, Slomski P, Balkó S, Balko I. Advances in

- athlete genomics in 2019. Trends in Sport Sciens 2019; 2(26): 55-61.
8. Nakamura O, Ishii T, Ando Y, Amagai H, Oto M, Imafuji T, et al. Potential role of vitamin D receptor gene polymorphism in determining bone phenotype in young male athletes. J Appl Physiol (1985) 2002; 93(6): 1973-9.
 9. Khalidi N, Fayyaz Milani R, Arjamand S. frequency of polymorphisms of genes related to physical performance and genetics of athletic aptitude in Iranian population and elite athlete [in Persian]. Journal of Applied Sports Physiology 2014; 11(21): 103-18.
 10. Massidda M, Corrias L, Bachis V, Cugia P, Piras F, Scorcu M, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and musculoskeletal injuries in professional football players. Exp Ther Med 2015; 9(5): 1974-8.
 11. Tajima O, Ashizawa N, Ishii T, Amagai H, Mashimo T, Liu LJ, et al. Interaction of the effects between vitamin D receptor polymorphism and exercise training on bone metabolism. J Appl Physiol 2000; 88(4): 1271-6.
 12. Diogenes ME, Bezerra FF, Cabello GMK, Cabello PH, Mendonça LMC, Júnior AVO, et al. Vitamin D receptor gene FokI polymorphisms influence bone mass in adolescent football (soccer) players. Eur J Appl Physiol 2010; 108(1): 31-8.

Investigating a Variant in the Vitamin D Receptor Gene in Ahvaz Male and Female Athletes Compared to the Control Group with Normal Body Mass

Maryam Hakimian¹, Delbar Mohammadi¹, Atousa Moradzadegan²

Original Article

Abstract

Background: Typically 20-80% of changes in sports performance traits are related to genetic factors. To date, more than 200 genes related to sports performance have been identified. The VDR (Vitamin D receptor) gene can play an important role in cell proliferation, differentiation, and contraction process. The aim of this study is to investigate a variant of the VDR gene in athletes as a genetic marker in determining sports talent.

Methods: In this research, 100 professional athletes in 2 groups, men and women and 100 healthy non-athletes with normal BMI were included in the study as a control group. After obtaining informed consent, blood was drawn to determine the genotype of rs10735810 polymorphism or FokI locus by ARMS-PCR method. Data analysis was done with GraphPad Prism 6 software and the Chi-squared test.

Findings: The number of people with the F/F genotype in the athletes' group was 23% and in the control group was 65%, as well as the people with the F/f genotype in the athletes' group was 64% and in the control group was 20%. The number of people with the f/f genotype in two the athletes group was 13% and the control group was 15%. Also, no significant difference was observed from the comparison of genotypic frequency in the two groups of female and male athletes compared to each other.

Conclusion: This study showed that the effect of the f allele is only in the heterozygous state which indicates the gender-independent effect of this polymorphism in the population.

Keywords: FokI; Polymorphism; VDR; Gene; Athletes

Citation: Hakimian M, Mohammadi D, Moradzadegan A. **Investigating a Variant in the Vitamin D Receptor Gene in Ahvaz Male and Female Athletes Compared to the Control Group with Normal Body Mass.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(692): 851-6.

1- MSc Student, Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran

2- Assistant Professor, Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran

Corresponding Author: Atousa Moradzadegan, Assistant Professor, Department of Experimental Sciences, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, Iran; Email: a.moradzadegan@iaud.ac.ir